

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang dan Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi. Waktu pelaksanaan penelitian ini pada bulan Februari sampai bulan Juli 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik Pioneer Ohaus, erlenmeyer, beaker glass 250 ml, baskom plastik, ayakan 80 *mesh*, *cabinet dryer*, termometer, *magnetic stirrer*, *hotplate stirrer*, cetakan ukuran 20 x 20 x 3 cm, gelas *water vapor transmission rate*/WVTR, oven, gelas ukur 100 ml (*herma*), desikator, *pengaduk kaca*, *stopwatch*, mikrometer sekrup, alat pengukur tekstur EZ-SX *Texture analyzer* (Shimadzu), sarung tangan, *Spectrophotometer* UV-Vis (Shimadzu), plastik PP (*Polypropylene*), cawan petri, cawan porselen, SEM (*Scanning Electron Microscopy*) Tabletop Hitachi TM-3000.

3.2.2 Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah umbi suweg dengan tingkat kematangan sedang dengan warna umbi suweg dominan coklat, ukuran yang tidak seragam dan umurnya masih muda karena dipanen pada awal musim serta diperoleh dari Magetan, Jawa Timur. Aquades diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi

Universitas Muhammadiyah Malang. Lilin lebah bewarna kuning diperoleh dari Wisata Petik Madu, Lawang. NaCl diperoleh dari Makmur Sejati Malang. STTP diperoleh di Toko Kue Prima Rasa Malang, Gliserol diperoleh dari Makmur Sejati Malang.

3.3 Metodologi Penelitian

Metode penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok faktorial. Faktor pertama yaitu perbedaan konsentrasi pati umbi suweg S1 (3%), S2 (4%), dan S3 (5%) (b/v), sedangkan faktor kedua yaitu perbedaan konsentrasi lilin lebah L1 (1%), L2 (2%), dan L3 (3%) (b/v). Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variant* (ANOVA) dan dilanjutkan uji banding DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan taraf nyata 5% ($\alpha=0,05$)

Faktor-faktor yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut
Faktor I= konsentrasi pati umbi suweg (S) dengan aquades 125 ml , terdiri dari 3 taraf :

S1 = 3% (b/v)

S2 = 4% (b/v)

S3 = 5% (b/v)

Faktor II = konsentrasi lilin lebah (L) dengan aquades 125 ml, terdiri dari 3 taraf :

L1 = 1% (b/v)

L2 = 2% (b/v)

L3 = 3% (b/v)

Kombinasi perlakuan (T_c) = $3 \times 3 = 9$, dengan jumlah ulangan minimum perlakuan (n) adalah :

$$T_c(n-1) \geq 15$$

$$9(n-1) \geq 15$$

$$9n \geq 24$$

$$n \geq 2,6 \dots\dots \text{dibulatkan menjadi } n=3$$

untuk memperoleh ketelitian dilakukan ulangan sebanyak 3 kali

Tabel 1.Desain Eksperimen

S1			S2			S3		
L1	L2	L3	L1	L2	L3	L1	L2	L3
S1L1	S1L2	S1L3	S2L1	S2L2	S2L3	S3L1	S3L2	S3L3

Terdapat 9 kombinasi perlakuan: S1L1, S1L2, S1L3, S2L1, S2L2, S2L3, S3L1, S3L2, S3L3. diulang sebanyak 3 kali ulangan sehingga terdapat 27 unit percobaan:

1. S1L1 :pati umbi suweg (3%) dan lilin lebah(1%)
2. S1L2 :pati umbi suweg (3%) dan lilin lebah(2%)
3. S1L3 :pati umbi suweg (3%) dan lilin lebah(3%)
4. S2L1 :pati umbi suweg (4%) dan lilin lebah(1%)
5. S2L2 :pati umbi suweg (4%) dan lilin lebah(2%)
6. S2L3 :pati umbi suweg (4%) dan lilin lebah(3%)
7. S3L1 :pati umbi suweg (5%) dan lilin lebah(1%)
8. S3L2 :pati umbi suweg (5%) dan lilin lebah(2%)
9. S3L3 :pati umbi suweg (5%) dan lilin lebah(3%)

Tabel 2. Tabel Acak

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
S3L1	S2L2	S1L2
S1L1	S1L3	S2L3
S2L1	S3L1	S1L3
S1L3	S3L3	S2L2
S1L2	S1L2	S3L1
S3L3	S2L1	S1L1
S2L2	S2L3	S3L2
S2L3	S3L2	S2L1
S3L2	S1L1	S3L3

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Proses Pembuatan Pati Umbi Suweg

Umbi suweg dikupas, kemudian direndam dengan larutan NaCl 10% selama 24 jam untuk menghilangkan kalsium oksalat. Setelah 24 jam umbi suweg dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan sisa kotoran yang masih menempel pada umbi. Kemudian umbi suweg diparut, lalu dilakukan ekstraksi pati dengan penambahan air. Hasil ekstraksi kemudian diendapkan selama 12 jam. Endapan yang diperoleh dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* pada suhu 50°C selama 6 jam, kemudian padatan kering selanjutnya dihaluskan dan diayak. Padatan yang lolos 80 mesh adalah pati umbi suweg.

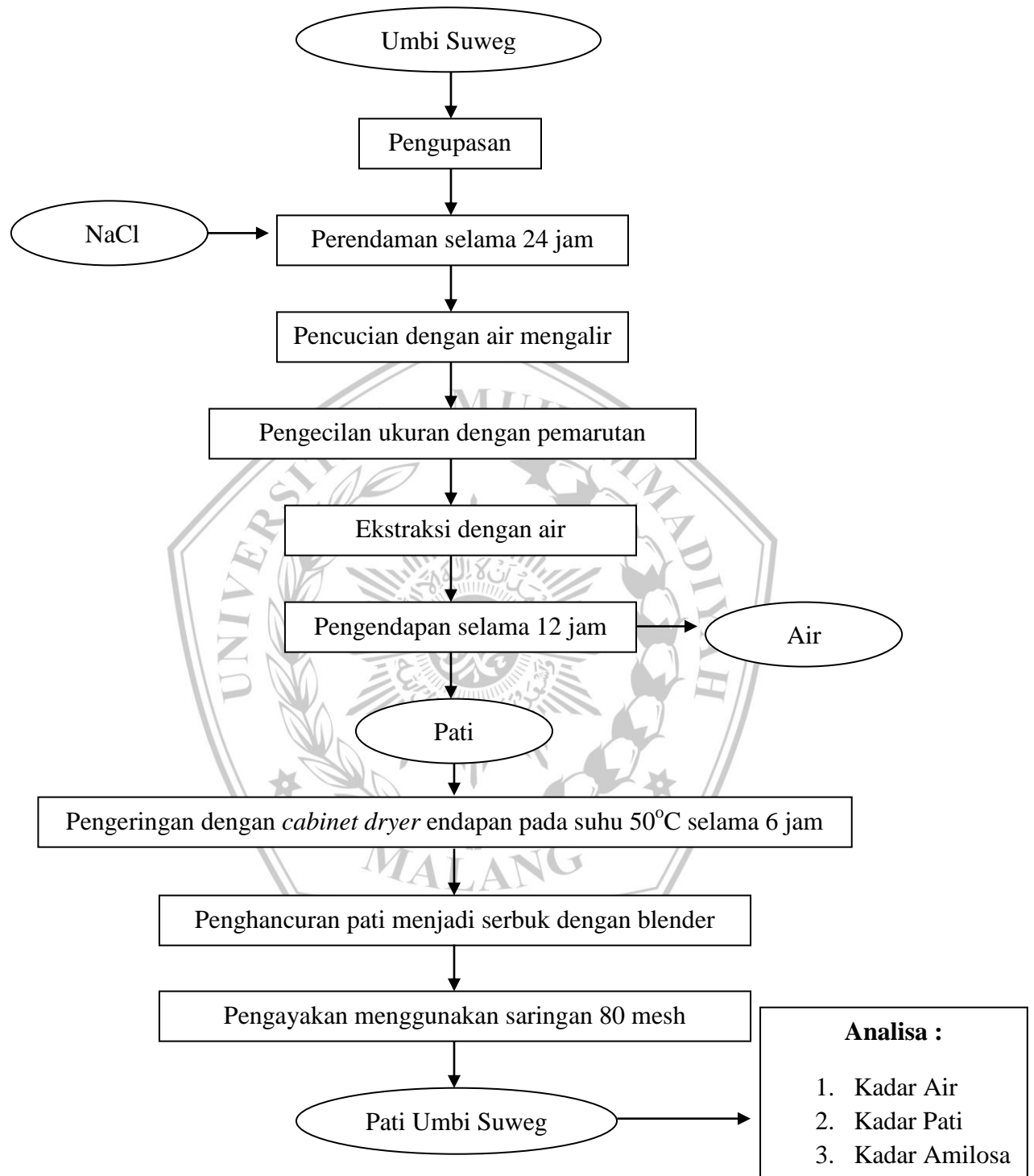
3.4.2 Proses Pembuatan *Edible Film*

Pembuatan *edible film* diawali dengan menyiapkan aquades sebanyak 125 ml kemudian penambahan pati sesuai perlakuan (3%, 4%, dan 5%) (b/v), penambahan lilin lebah sesuai perlakuan (1%, 2%, dan 3%) (b/v), penambahan gliserol 1,25% dan STTP 0,4%. Adonan *edible film* dipanaskan diatas *hot plate stirrer* hingga mencapai suhu $\pm 85^{\circ}\text{C}$ dan dipertahankan selama 5 menit. Selama proses pemanasan

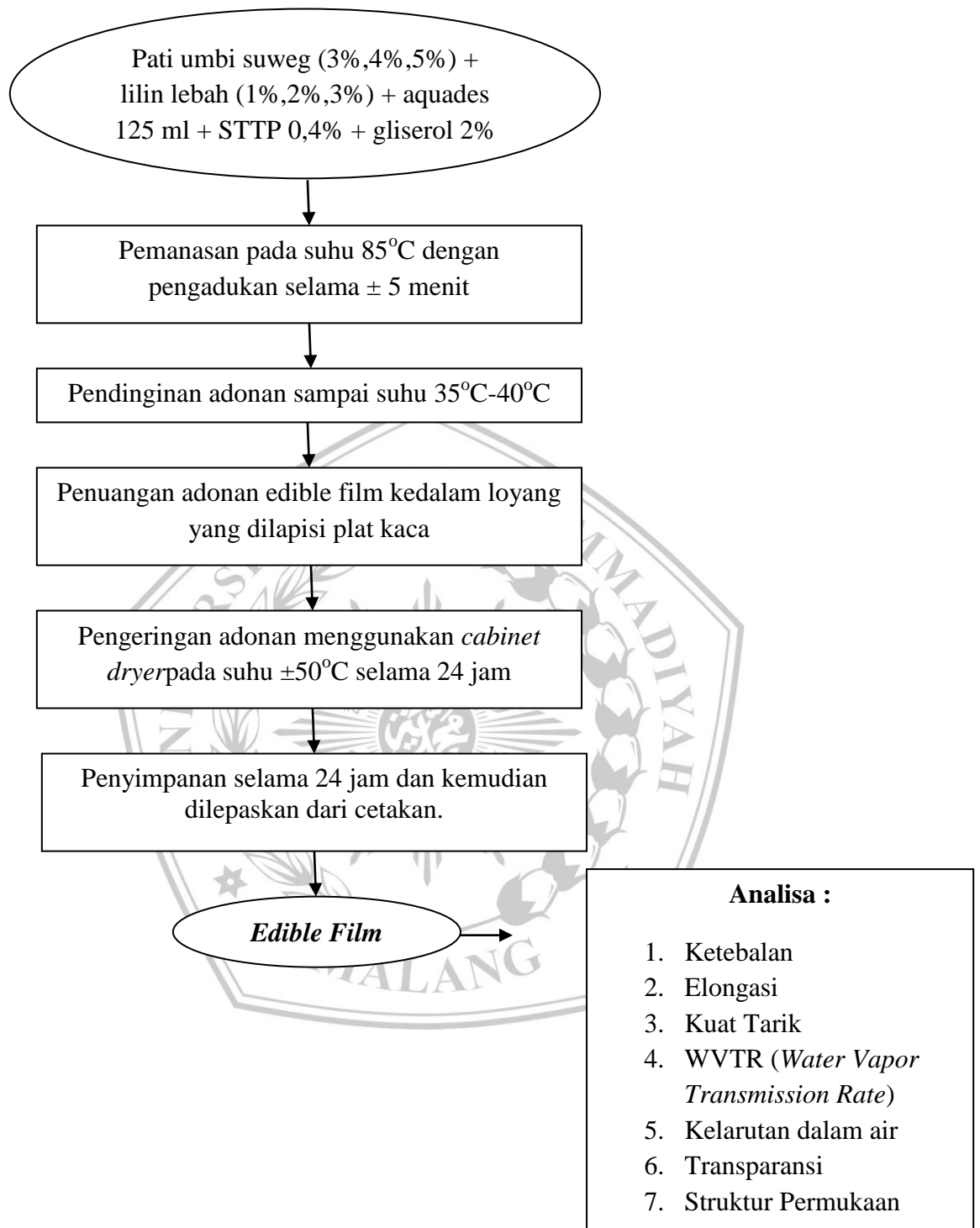
tersebut adonan terus diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Larutan *edible film* kemudian dilakukan proses pendinginan sampai suhu 35°C-40°C. Adonan *edible film* selanjutnya dicetak pada loyang yang telah dilapisi plastik dan kaca. Cetakan dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Setelah dikeringkan *edible film* dilakukan penyimpanan selama 24 jam dan kemudian dilepaskan dari cetakan.



3.4 Diagram Proses Penelitian



Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Pati Umbi Suweg (Yulianti, dkk, 2016) dengan modifikasi



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan *Edible Film* (Warkoyo, dkk, 2014) dengan modifikasi

3.5 Analisa Bahan Baku

3.5.1 Kadar Pati Metode Hidrolisis Asam (AOAC,1984) Dilanjutkan dengan Metode Nelson Somogyi (Sudarmadji dkk,1984)

Pati suweg ditimbang sebanyak 3 gram kemudian dimaserasi menggunakan 30 ml etanol 80% selama 15 menit dengan tujuan untuk menghilangkan gula gula sederhana yang masih terkandung pada suhu ruang. Selanjutnya suspensi disaring menggunakan kertas saring dan residu yang dihasilkan dicuci menggunakan aquades hingga diperoleh volume filtrat sebesar 250 ml. residu tersebut dicuci sebanyak 5 kali untuk menghilangkan lipid yang menempel menggunakan 10 ml eter. Setelah dicuci, sampel didiamkan untuk menguapkan eter dan dicuci lagi menggunakan 150 ml alkohol 10% dengan tujuan untuk membebaskan karbohidrat yang masih terlarut dalam residu. Residu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 jam. Sampel yang telah dihilangkan lemak dan karbohidratnya digunakan dalam analisis pati. Selanjutnya sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan dalam tabung ulir 50 ml dan ditambahkan 5 ml HCl 25%. Proses hidrolisis berlangsung selama 2 jam dalam air mendidih, kemudian sampel didinginkan dan dinetralkan dengan NaOH 40% selanjutnya diencerkan hingga mencapai 500 ml dan disaring. Kadar pati ditentukan dengan metode nelson-somogyi dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Pati (\%)} = \frac{\text{BM Pati (m} \times 162)}{\text{BM Gula (m} \times 180)} \times \text{kadar gula}$$

3.5.2 Kadar Amilosa (AOAC,1995)

Pati ditimbang sebanyak 100 mg dan dimasukkan dalam labu ukur 100 ml selanjutnya ditambahkan 1 ml etanol 95% dan 9 ml NaOH 1 N. Larutan didiamkan

selama 23 jam pada suhu ruang atau dapat juga dilakukan dengan memanaskan pada penangas air bersuhu 100°C selama 10 menit selanjutnya didinginkan selama 1 jam. Larutan tersebut diencerkan menggunakan air suling hingga 1000 ml dengan 60 ml air. Larutan yang terdapat dalam labu ukur ditambahkan 1 ml asam asetat 1 N dan 2 ml I₂ 25 ml selanjutnya diencerkan hingga volume mencapai 100 ml. kemudian larutan tersebut dikocok dan didiamkan selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 620 nm. Kadar amilosa dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Amilosa (\%)} = \frac{A_{620} \times f_k \times 100 \times 100\%}{100 - k.a}$$

$$f_k = \frac{1}{\text{abs 1 ppm}} \times \frac{1000 \times 20}{10000000}$$

3.5.3 Kadar Air (AOAC,1984)

Botol timbang kosong dipanaskan selama 15 menit didalam oven. Selanjutnya botol diangkat dan dipindahkan dalam desikator untuk didinginkan. Botol timbang tersebut kemudian ditimbang beratnya dan hasilnya berupa berat awal. Pati ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan dalam botol timbang untuk dikeringkan dalam oven selama 3-5 jam dengan suhu 100-105°C. Selanjutnya pati tersebut dipindahkan dalam desikator untuk didinginkan kemudian ditimbang dan hasilnya dinyatakan sebagai berat akhir. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat akhir}} \times 100\%$$

3.6 Parameter Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk karakteristik *edible film* pati umbi suweg (*Amorphaphollus paeoniifolius*) dengan variasi konsentrasi lilin lebah. Karakteristik yang dianalisis diantaranya adalah ketebalan *edible film*, elongasi, kuat tarik, laju transmisi uap air (*water vapor transmission rate/ WVTR*), kelarutan dalam air, transparansi dan struktur permukaan.

3.6.1 Ketebalan *Edible Film*

Pengukuran terhadap Film yang dihasilkan diukur menggunakan mikrometer dengan ketelitian alat 0,0001 mm. Pengukuran dilakukan pada lima tempat yang berbeda untuk mendapatkan ketebalan rata-rata yang mewakili contoh yang menunjukkan nilai ketebalan (Setiani, dkk, 2013)

3.6.2 Elongasi

Menurut Sudirman, dkk (2012) elongasi atau pemanjangan dihitung dengan membandingkan *edible film* yang putus setelah ditarik dan *edible film* sebelum di tarik oleh alat. Kemluran dihitung dengan rumus :

$$E = \text{panjang akhir ketika putus (cm)} - \text{panjang awal (cm)}$$

3.6.3 Kuat Tarik

Menurut Sudirman, dkk (2012) kuat tarik ditentukan berdasarkan beban maksimum pada saat *film* pecah dan persentase pemanjangan didasarkan atas pemanjangan *film* saat *film* putus. Pengukuran kuat tarik *edible film* dapat dilakukan dengan cara memotong sampel dengan ukuran 8 cm x 4 cm. Sampel tersebut dikaitkan secara horizontal pada alat *Texture Analyzer* dengan luasan yang dijepit 2 cm pada kedua sis panjangnya.

Secara matematis hubungan tersebut dapat ditulis sebagai berikut :

$$\text{Kuat Tarik} = \frac{F}{A}$$

Keterangan :

F = gaya kuat tarik (N)

A = Luas penampang (mm²)

3.6.4 Laju Transmisi Uap Air (*Water Vapor Transmission Rate/WVTR*)

Menurut Sudirman, dkk (2012) Laju transmisi uap air terhadap film diukur dengan menggunakan metode gravimetri. Prinsip kerja dari metode ini adalah mengukur besarnya uap air yang mampu menembus sampel *edible film* dengan cara menghitung pertambahan berat pada bahan penyerap uap air (desikan) yang menyerap uap air dari sisi luar *edible film*. Cawan yang berisi 2 gram silica gel ditutup dengan *edible film* berukuran 7 cm x 7 cm. Kemudian cawan tersebut dimasukkan dalam desikator yang berisi NaCl 40% dan disimpan pada suhu ruang. Setiap 24 jam sekali cawan ditimbang selama 6 hari. Perubahan berat cawan selama 6 hari dibuat grafik untuk mengetahui perubahan beratnya. Rumus perhitungan WVTR adalah sebagai berikut.

$$\text{WVTR} = \frac{m}{A \times t}$$

Keterangan :

M = massa uap air yang melewati bahan

A = luas area bahan yang dilewati uap air (cm²)

T = waktu (jam)

3.6.5 Kelarutan Dalam Air

Menurut Bertuzzi dkk (2007) kelarutan film dalam air diukur sebagai persen berat kering film yang telah dilarutkan dalam air selama 24 jam. Kelarutan *film* ditentukan menggunakan metode Colla dkk (2006). *Edible film* dipotong membentuk lingkaran dengan diameter 3 cm, dipotong dan ditimbang kemudian direndam dalam 50 ml aquades. Berat kering sampel awal dan akhir ditentukan dengan mengeringkan sampel pada suhu 110°C selama 24 jam.

$$\text{Kelarutan (\%)} = \frac{W_a - W_b}{W_b} \times 100\%$$

Keterangan

W_a = berat awal (g)

W_b = berat akhir (g)

3.6.6 Transparansi

Menurut Warkoyo dkk (2014) Pengukuran transparansi pada *edible film* dilakukan menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Pengukuran tersebut memerlukan kontrol sehingga digunakanlah plastik PP (*polypropylene*) dengan nilai absorbansinya sebesar 0,063. *Edible film* yang diuji dipotong sesuai ukuran kuvet (4 cm x 1 cm) kemudian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Transparansi} = \frac{\text{absorbansi}}{\text{ketebalan (mm)}}$$

3.6.7 Struktur Permukaan

Menurut Setiani dkk (2013) Analisis morfologi terhadap struktur permukaan *edible film* dilakukan dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*).

Sampel *edible film* ditempelkan pada *set holder* dengan perekat ganda, kemudian dilapisi dengan logam emas dalam keadaan vakum. Setelah itu, sampel dimasukkan pada tempatnya di dalam SEM, kemudian Gambar topografi diamati dan dilakukan perbesaran 1000 kali.

